昆 虫 学 报 *Acta Entomologica Sinica*，November 2007，50(11)：1087 - 1091　　ISSN 0454-6296

高温胁迫下 B 型烟粉虱热激蛋白基因 *hsp*70 表达量的变化

崔旭红，谢　明，万方浩*

（中国农业科学院植物保护研究所，植物病虫害生物学国家重点实验室，北京　100094）

摘要：为了探讨热激蛋白在 B 型烟粉虱 *Bemisia tabaci* B-biotype 抵抗高温中的作用，以含有 B 型烟粉虱热激蛋白基因 *hsp*70 片段的质粒为模板，用 TaqMan-MGB 探针和特异性引物构建了 B 型烟粉虱 *hsp*70 实时荧光定量 RT-PCR 检测体系，并检测了 37℃～45℃高温胁迫及气温变化时 B 型烟粉虱成虫体内 *hsp*70 表达的情况。结果表明：缓和的高温对 B 型烟粉虱成虫 *hsp*70 表达具有诱导作用，在 37℃～41℃范围内，*hsp*70 的表达量随着温度的升高从 $8.78\times10^5 \pm 6.41\times10^4$ 拷贝数上升到 $1.99\times10^7 \pm 1.45\times10^5$ 拷贝数，在 41℃时达到最高峰；而当温度升高到 43℃和 45℃，*hsp*70 表达量迅速降低。B 型烟粉虱成虫 *hsp*70 的表达与昼夜气温变化有关，当上午气温从 34℃上升到 41℃时，*hsp*70 的表达量从 $1.16\times10^5 \pm 1.48\times10^4$ 拷贝数上升到 $6.29\times10^6 \pm 1.80\times10^5$ 拷贝数；当傍晚气温下降到 33℃时，*hsp*70 表达量也下降到 $2.32\times10^5 \pm 7.69\times10^3$ 拷贝数。因此推测，*hsp*70 在 B 型烟粉虱抵抗高温胁迫方面可能具有重要作用。

关键词：B 型烟粉虱；高温胁迫；热激蛋白基因 *hsp*70；表达量；实时荧光定量 RT-PCR；TaqMan-MGB 探针

中图分类号：Q966　　**文献标识码**：A　　**文章编号**：0454-6296(2007)11-1087-05

Changes in expression level of heat shock protein 70 gene in *Bemisia tabaci* B-biotype (Homoptera：Aleyrodidae) under high temperature stress

CUI Xu-Hong，XIE Ming，WAN Fang-Hao* (State Key Laboratory for Biology of Plant Diseases and Insect Pests，Institute of Plant Protection，Chinese Academy of Agricultural Sciences，Beijing 100094，China)

Abstract：The plasmid with *hsp*70 cDNA of *Bemisia tabaci* B-biotype was used as a template. Based on the GenBank sequence data，one TaqMan-MGB probe and the corresponding primers were designed to construct a standard for real-time fluorescence quantitative RT-PCR to detect the expression of *hsp*70 in *B*. *tabaci* B-biotype，with which the changes in expression level of *hsp*70 from adults of *B*. *tabaci* B-biotype under different high temperature stress from 37℃ to 45℃ were detected. The results showed that mild high temperature could induce *hsp*70 expression in *B*. *tabaci* B-biotype adults. Within the range of 37℃ to 41℃，the *hsp*70 expression level of *B*. *tabaci* B-biotype adults increased from $8.78\times10^5 \pm 6.41\times10^4$ copies to $1.99\times10^7 \pm 1.45\times10^5$ copies；However，when the temperature increased to 43℃ and 45℃，the *hsp*70 expression level decreased very quickly. The *hsp*70 expression level of *B*. *tabaci* B-biotype adults changed in response to the diurnal temperature change. When air temperature increased from 34℃ to 41℃ in the morning，the *hsp*70 expression level increased dramatically from $1.16\times10^5 \pm 1.48\times10^4$ copies to $6.29\times10^6 \pm 1.80\times10^5$ copies；however，the *hsp*70 expression level decreased to $2.32\times10^5 \pm 7.69\times10^3$ copies when air temperature decreased to 33℃ at nightfall. It was so inferred that *hsp*70 in *B*. *tabaci* B-biotype may play an important role in high temperature tolerance.

Key words：*Bemisia tabaci* B-biotype；high temperature stress；*hsp*70；expression level；real-time fluorescence quantitative RT-PCR；TaqMan-MGB probe

基金项目：国家重点基础研究发展规划'973'项目(2002CB111400)

作者简介：崔旭红，女，1977 年生，湖北襄樊人，博士研究生，研究方向为外来生物入侵，E-mail：xuhongcui@sina.com

* 通讯作者 Author for correspondence，Tel.：010-68975297；E-mail：wanfh@cjac.org.cn

收稿日期 Received：2007-05-28；接受日期 Accepted：2007-09-05

B 型烟粉虱 *Bemisia tabaci*（Gennidius）B-biotype 是一种耐热性昆虫，适应沙漠性气候，在美国西南部气温超过 50℃ 的地区仍旧能够生存（Wolfe *et al*.，1998）。Ramos 等（2002）也曾报道烟粉虱的种群发生与气候条件有关，在盛夏高温季节粉虱种群增长迅速，危害严重；而在气候凉爽的初春和秋季种群数量下降。前人的研究发现，多羟基化合物在 B 型烟粉虱抵抗高温胁迫方面具有重要作用（Wolfe *et al*.，1998；Salvucci *et al*.，1999，2000）。例如，B 型烟粉虱可以将从食物中获得果糖作为底物，在一种 NADPH 酮糖还原酶的作用下将果糖转变成山梨醇来提高耐热性（Hendrix and Salvucci，1998）。B 型烟粉虱体内山梨醇的含量变化与温度呈正相关，在气温较高的中午，粉虱体内积累的山梨醇含量是清晨时的 8 倍（Salvucci *et al*.，2000）。

热激蛋白也是人们广泛所知的与耐热性相关的物质。当生物体遭受应激源刺激（如高温）时，体内的热激蛋白（又称为热休克蛋白，heat shock proteins，HSPs）就会被合成或含量增加（Denlinger and Yocum 1998；Feder and Hoffmann，1999）。根据对昆虫、鱼类、植物和哺乳动物等多种生物的研究发现，HSPs 尤其是 HSP70 在生物体抵抗高温方面具有重要作用，生物体耐热性获得的速度与 HSPs 积累速率呈正相关；耐热性的下降与 HSPs 的降解同步（Denlinger and Yocum，1998；Sørensen *et al*.，1999，2001；Chen and Chen，2004），而生物体内 HSPs 含量发生急剧变化的原因很可能是应激时 *hsp* 转录水平发生了变化（李俊杰等，2004）。王海鸿（2005）的研究表明热激蛋白在 B 型烟粉虱抵抗环境胁迫方面有着重要作用。因此，为了明确 HSP70 在 B 型烟粉虱抵抗高温胁迫中的作用，我们构建了实时荧光定量 RT-PCR 定量检测体系，并检测了温度变化对 B 型烟粉虱 *hsp*70 表达的影响。

1 材料与方法

1.1 供试昆虫

B 型烟粉虱成虫分别采自中国农业科学院农业环境与可持续发展研究所温室（温室 1）和品质所温室（温室 2）中长期保持的实验种群。温室 1 内的平均温度 22℃～28℃，相对湿度 50%～60%，自然光。温室 2 的温度、相对湿度和光线均为自然条件。实验中 B 型烟粉虱的寄主植物为棉花 *Gossypium hirsutum* L.，泗棉 3 号品种，由中国农业科学院植物保护研究所惠赠。

1.2 主要试剂

Trizol 试剂，SuperScript™ First-Strand Synthesis System 试剂盒购自 Invitrogen 公司；Taq 酶、dNTP 购自 NEB 公司；pMD18-T vector 连接试剂盒购自 TaKaRa 公司；琼脂糖 DNA 凝胶回收试剂盒、质粒抽提试剂盒购自天根公司；ABI TaqMan 2×PCR Master Mix 以及荧光 PCR 八连管及管盖为美国 ABI 公司产品。

1.3 总 RNA 提取和 cDNA 第 1 链的合成

按照 Trizol 试剂的使用说明提取 B 型烟粉虱总 RNA。用琼脂糖凝胶电泳和紫外分光光度计检测总 RNA 的纯度和浓度。随后取 2 μg 总 RNA 合成 cDNA 第 1 链（SuperScript™ First-Strand Synthesis System 试剂盒）。

1.4 引物、探针设计与合成

根据 B 型烟粉虱 *hsp*70 序列（GenBank 登录号 EF488763）设计 B 型烟粉虱 *hsp*70 的 Taqman-MGB 探针及引物，扩增片段长度为 62 bp。由于与探针的配套引物所扩增的目的片段较短，在进行克隆时成功率低，因此设计了 1 对外围引物用于制作标准品，扩增片段长度为 323 bp。以上探针和引物均由上海基康生物技术有限公司设计和合成。

B 型烟粉虱 *hsp*70 引物及探针序列：FP：CGATTCTCAGCGGTGATACCA，RP：GGGTGCTACGTCGACAAGGA，Probe：FAM-CTCAGCTATCCAAGATG；外围引物：SB4-FP：TCGACTACTACACCAAGGTCTCAAGA，SB4-RP：GGGTGCTACGTCGACAAGGA。

1.5 标准曲线样品的制备

1.5.1 PCR 产物的扩增、克隆和鉴定：以上述合成的 cDNA 第 1 链为模板，用 SB4-FP 和 SB4-RP 扩增 B 型烟粉虱 *hsp*70 cDNA 片段。PCR 产物回收纯化后（琼脂糖 DNA 凝胶回收试剂盒）连接到载体 pMD18-T Vector 上，然后转化到感受态细胞 JM109。转化结束后用 SB4-FP 和 SB4-RP 进行 PCR 扩增，以确定产物的片段长度与插入的片段是否一致。确认后挑取与插入片段一致的菌株进行培养，将培养后的菌液用试剂盒提取质粒 DNA，用于测序和制备标准品。

1.5.2 标准曲线样品的制备与定量 PCR 检测：以紫外分光光度计检测质粒 DNA 浓度，计算质粒浓度与质粒拷贝数。将质粒稀释为 2.0×10^7 拷贝数后依次进行倍比稀释，直到 2.0×10^2 拷贝数，共 6 个梯度。将上述 6 个浓度梯度的质粒进行实时荧光 PCR 扩增，然后根据拷贝数和 Ct 值（每个反应管内的荧

光信号到达设定的域值时所经历的 PCR 循环数）制作标准曲线。这几个浓度的样品保存于 –70℃作为以后的标准样品。荧光定量 PCR 检测的反应体系（25 μL）为 TaqMan PCR Master Mix 12.5 μL，Probe（20 μmol/L）0.625 μL，正反向引物（20 μmol/L）各 1.125 μL，cDNA 2 μL，H_2O 7.625 μL。荧光定量 PCR 循环条件：50℃ 2 min；95℃ 10 min；然后 95℃ 15 s，60℃ 30 s，40 个循环。

1.6　B 型烟粉虱 *hsp*70 表达的定量检测

1.6.1　高温胁迫下 B 型烟粉虱 *hsp*70 表达的定量检测：在温室 1 气温为 26℃时采集 B 型烟粉虱成虫到 Eppendorf 管中，每个管内大约有 200 头粉虱。将粉虱分别在 37℃、39℃、41℃、43℃和 45℃下热激处理 1 h 后在 26℃恢复 1 h。随后参照上文 1.3 的方法提取总 RNA 和合成 cDNA 第 1 链。用管家基因（β-*actin*）对反转录样品进行 PCR 扩增来检测反转录是否成功，然后对样品进行实时荧光定量检测。每处理重复 3 次。

1.6.2　气温变化对 B 型烟粉虱 *hsp*70 表达的影响：分别于 10：00，12：00，14：00，19：00 在温室 2 中采集 B 型烟粉虱成虫并记录采虫时温室内的温度。将虫用液氮冷冻后带回实验室提取总 RNA 并进行质量与浓度检测，然后取 2 μg 合格的总 RNA 反转录合成 cDNA 第 1 链。用管家基因（β-*actin*）对反转录样品进行 PCR 扩增来检测反转录是否成功，将反转录成功的样品进行荧光定量检测。每处理重复 3 次。

1.7　数据分析

标准样品的荧光定量 PCR 扩增曲线由 PCR 仪自动生成。标准样品质粒拷贝数和 Ct 值之间的线性关系分析以及不同时间采集的 B 型烟粉虱成虫样品中的质粒拷贝数之间的显著性差异分析用统计软件 SPSS 进行（SPSS10.0，SPSS Inc.，USA），显著性检验水平均为 $P \leqslant 0.05$。

2　结果与分析

2.1　B 型烟粉虱成虫总 RNA 的提取和 cDNA 第 1 链的合成

将 B 型烟粉虱总 RNA 进行琼脂糖凝胶电泳，结果表明，18S、28S 明亮清晰、条带锐利，并且 28S 的亮度在 18S 条带的两倍以上；紫外分光光度计检测表明总 RNA 样品的 A_{260}/A_{280} 比值在 1.8～2.0 之间，总 RNA 的浓度大约为 0.7 μg/μL 左右。说明提取的 RNA 的纯度和完整性得到很好的控制，可以用于实验。以总 RNA 为模板合成 cDNA 第 1 链后用引物进行扩增，结果表明有 300 bp 左右条带出现，与实验设计相符。

2.2　标准曲线样品的制备

将重组质粒直接进行 PCR 扩增，发现存在目的条带；进行测序后将结果进行比对，同源性达到 100%，说明在构建的重组质粒中含有目的基因。

由图 1 可见，经梯度稀释的模板浓度每降低 10 倍，可检测到荧光信号的起始循环数增加约 3～4 次。标准品的模板浓度与可检测到荧光信号的循环数呈显著的线性关系，其相关系数 $R^2 = 0.9991$（图 2），表明这个标准曲线可以在较宽的范围内用于 B 型烟粉虱 *hsp*70 表达的绝对定量检测。

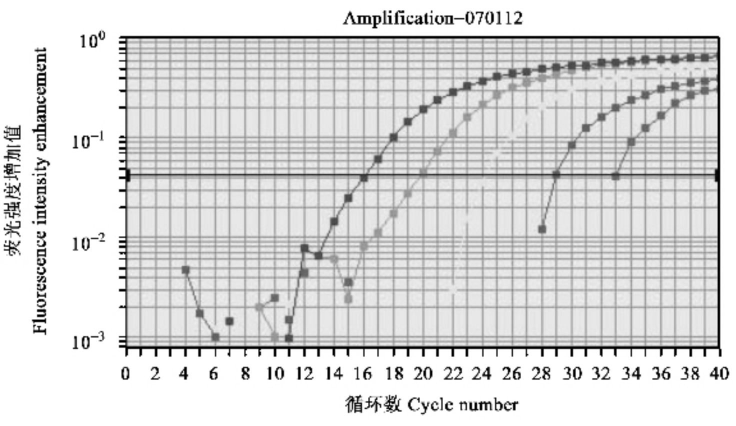

图 1　标准品的荧光定量 PCR 扩增曲线

Fig. 1　Amplification curve of standard samples using real-time PCR

基线上方从左到右标准品的浓度分别为 2.00×10^7，2.00×10^6，2.00×10^5，2.00×10^4，2.00×10^3 和 2.00×10^2。

Copies of standard samples from left to right：2.00×10^7，2.00×10^6，2.00×10^5，2.00×10^4，2.00×10^3 and 2.00×10^2，respectively.

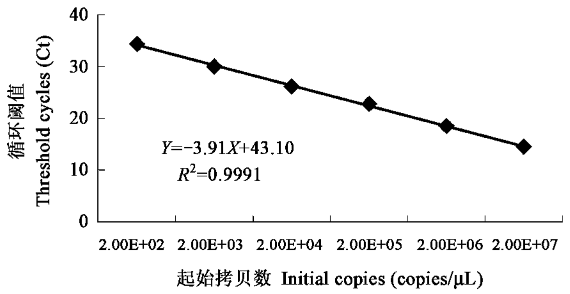

图 2　已知 B 型烟粉虱 *hsp*70 标准品拷贝数时所绘制的标准曲线

Fig. 2　Linear standard curve with the known copies of *hsp*70 partial cds of *Bemisia tabaci* B-biotype

2.3　B 型烟粉虱 *hsp*70 表达的定量检测

2.3.1　高温暴露后 B 型烟粉虱 *hsp*70 表达的定量检测：B 型烟粉虱成虫在 37℃下胁迫 1 h 后就可以检测到粉虱体内有 *hsp*70 的表达(表 1)；随着胁迫温度的升高，B 型烟粉虱的 *hsp*70 的表达量也逐渐升高，在 41℃时达到了最高峰($1.99\times10^{7}\pm1.45\times10^{5}$ 拷贝数)，此后随着温度的升高，*hsp*70 的表达量迅速下降，经过 43℃的高温处理 1 h 后，*hsp*70 的表达量下降到 $3.60\times10^{4}\pm2.00\times10^{3}$ 拷贝数；在 45℃下处理 1 h 后，*hsp*70 的表达量为 $1.76\times10^{4}\pm1.53\times10^{3}$ 拷贝数。

表 1　高温暴露后 B 型烟粉虱 *hsp*70 表达的定量检测

Table 1　Detection of *hsp*70 gene expression in *Bemisia tabaci* B-biotype adults after exposure to high temperature for 1 h using real-time fluorescence quantitative RT-PCR

温度(℃) Temperature	循环阈值(Ct) Threshold cycles	起始拷贝数 (拷贝数/μL) Initial copies (copies/μL)
37	23.12	$8.78\times10^{5}\pm6.41\times10^{4}$ a
39	21.48	$2.46\times10^{6}\pm1.38\times10^{5}$ b
41	18.08	$1.99\times10^{7}\pm1.45\times10^{5}$ c
43	28.27	$3.60\times10^{4}\pm2.00\times10^{3}$ d
45	29.48	$1.76\times10^{4}\pm1.53\times10^{3}$ d

注：表中起始拷贝数数据为平均值 ± 标准误；同列数据后标有不同字母表示差异显著($P\leqslant0.05$，S-N-K 检验)；表 2 同。

Notes: The data about initial copies in the table are mean ± *SE*, and the means within the same column followed by different letters are statistically significant by S-N-K test ($P\leqslant0.05$). The same for Table 2.

2.3.2　气温变化对 B 型烟粉虱成虫 *hsp*70 表达的影响：B 型烟粉虱体内的 *hsp*70 表达随着气温的变化而变化(表 2)。当上午 10:00 气温达到 34℃时即可检测到粉虱体内有 *hsp*70 的表达($1.16\times10^{5}\pm1.48\times10^{4}$ 拷贝数)；随着气温的升高，B 型烟粉虱成虫体内 *hsp*70 表达显著增加，当上午 12:00 与下午 14:00 气温上升到 41℃和 41.5℃时粉虱体内 *hsp*70 的表达量分别上升到 $6.29\times10^{6}\pm1.80\times10^{5}$ 拷贝数和 $6.47\times10^{6}\pm1.91\times10^{5}$ 拷贝数，与 10:00 时的表达量相比存在显著差异；到傍晚 19:00 气温下降到 33℃时粉虱体内 *hsp*70 的表达量也下降到 $2.32\times10^{5}\pm7.69\times10^{3}$ 拷贝数。

表 2　气温变化对 B 型烟粉虱 *hsp*70 表达的影响

Table 2　Effect of temperature change in greenhouse on expression of *hsp*70 gene in *Bemisia tabaci* B-biotype adults

时间(h) Time of day	温度(℃) Temperature	循环阈值(Ct) Threshold cycles	起始拷贝数 (拷贝数/μL) Initial copies (copies/μL)
10:00	34.0	25.52	$1.16\times10^{5}\pm1.48\times10^{4}$ a
12:00	41.0	19.94	$6.29\times10^{6}\pm1.80\times10^{5}$ b
14:00	41.5	18.00	$6.47\times10^{6}\pm1.91\times10^{5}$ b
19:00	33.0	24.20	$2.32\times10^{5}\pm7.69\times10^{3}$ a

3　讨论

大量研究证明，HSPs 的合成与生物体耐热性的获得呈正相关，在较低温度下热激处理诱导生物体内 HSPs 合成，使得生物体在更高温度下的存活率上升。例如，非洲蝗虫在 50℃热激处理 2 h 后全部死亡，但在 39℃～45℃之间预处理之后，可以增加其在更高温度下的存活(Whyard *et al*., 1986)。太阳照射下的果蝇幼虫和蛹体内大量表达 HSP70 后可以抵抗 40℃高温 (Feder and Krebs，1997)。通过对热休克基因缺失突变体的研究证明，至少某些 HSPs 对有机体在高温下的存活和耐热性的获得是必需的(Parsell and Lindquist, 1994)。例如，把多拷贝的 *hsp*70 基因或 *hsp*70 反义基因转移到果蝇培养细胞或活体内的分子试验证明，HSP70 在果蝇耐热性的获得上具有重要作用(Solomon *et al*., 1991；Feder *et al*., 1996)。本研究发现，在 37℃～41℃范围内将 B 型烟粉虱成虫热激处理 1 h 后其体内 *hsp*70 表达水平随着温度的升高而上升；但当热激温度上升到 43℃和 45℃时，粉虱体内的 *hsp*70 表达水平又迅速下降。这与前期我们对 B 型烟粉虱成虫在高温条件下的存活情况的研究结果也相一致。在 37℃～41℃下暴露 1 h，随着温度的升高，B 型烟粉虱成虫的存活率下降比较缓慢，在 41℃下暴露 1 h 后其存活率仍超过了 90%；当温度上升到 43℃～45℃时，存活率迅速从 81.5% 下降到 42.6%。这很可能是由于在 37℃～41℃范围内 B 型烟粉虱受到突然的温度变化，发生了热激反应，体内 *hsp*70 mRNA 被迅速合成，HSP70 含量增加提高了 B 型烟粉虱对高温

的抵抗能力，使其存活率保持在较高的水平；但 HSP70 对细胞的保护只能在一定范围内起作用，应激超过一定的强度时，HSPs 的保护作用也是无能为力，所以在 43℃和 45℃时，粉虱体内的 *hsp*70 表达水平及其存活率都迅速下降（李俊杰等，2004）。同时，我们也观察到，在温室条件下粉虱体内 *hsp*70 的表达水平随着气温的变化而变化：在气温较高的中午 12 点与下午 2 点时 B 型烟粉虱成虫体内 *hsp*70 的表达量分别比上午 10 点时的表达量上升了 52.5 和 54.2 倍；而在傍晚当温度下降，诱导压力降低时，*hsp*70 的表达量也随之下降。昆虫是变温动物，对温度变化非常敏感。而在自然界中，环境处于不断变化当中，昆虫难以避免要受到温度变化的胁迫。当 B 型烟粉虱受到温度胁迫，尤其是极端温度胁迫时，*hsp*70 迅速表达，合成 HSP70，可以提高 B 型烟粉虱在高温下耐热性，这对种群的存在与发展具有重要意义。

生物体通过提高 HSPs 表达量获得耐胁迫能力的同时，往往需要付出一定的代价（Hoffmann，1995），如生殖力降低、生长缓慢、能量消耗增加、寿命缩短等。我们在之前的研究中发现，B 型烟粉虱成虫在 41℃下热激 1 h 后，其存活率和产卵量与对照（26℃）相比没有显著差异，但是其后代卵的孵化率仅有 52.3%（另文发表）。Silbermann 和 Tatar（2000）的研究也表明，果蝇在受到短暂热激后体内表达的 HSP70 会导致其后代卵的孵化率降低。B 型烟粉虱成虫在 41℃下热激 1 h 后其后代卵的孵化率降低是否是与 HSP70 表达有关还有待深入研究。

已有研究证明，生物体体内 HSPs 的表达与其发育阶段、环境等多种因素相关。我们的研究也发现 B 型烟粉虱成虫 *hsp*70 的表达水平与昼夜气温变化有关。因此在进行 *hsp*70 定量检测的相关研究中，统一实验对象的各种条件是非常重要的。

参 考 文 献（References）

Chen KY，Chen ZC，2004. Heat shock proteins of thermophilic and thermotolerant fungi from Taiwan. *Bot. Bull. Acad. Sin.*，45（3）：247－257.

Denlinger DL，Yocum GD，1998. Physiology of heat sensitivity. In：Hallman GJ，Denlinger DL eds. Thermal Sensitivity in Insects and Application in Integrated Pest Management. Colorado：Westview Press. 11－18.

Feder ME，Krebs RA，1997. Ecological and evolutionary physiology of heat shock proteins and the stress response in *Drosophila*：complementary insights from genetic engineering and natural variation. *EXS*，83：155－173.

Feder ME，Hoffmann GE，1999. Heat-shock proteins，molecular chaperones，and the stress response：evolutionary and ecological physiology. *Annu. Rev. Physiol.*，61：243－282.

Feder ME，Cartaño NV，Milos L，Krebs RA，Lindquist SL，1996. Effect of engineering hsp70 copy number on hsp70 expression and tolerance of ecologically relevant heat shock in larvae and pupae of *Drosophila melanogaster*. *J. Exp. Biol.*，199（8）：1 837－1 844.

Hendrix DL，Salvucci ME，1998. Polyol metabolism in homopterans at high temperature：accumulation of mannitol in aphids（Aphididae：Homoptera）and sorbitol in whiteflies（Aleyrodidae：Homoptera）. *Comp. Biochem. Physiol.*，120（3）：487－494.

Hoffmann AA，1995. Acclimation：increasing survival at a cost. *Trends Ecol. Evol.*，10（1）：1－2.

Li JJ，Sang RZ，Tian SJ，Feng ZH，2004. The application of heat shock protein 70（hsp70）in animal stress. *Ecology of Domestic Animal*，25（3）：44－46.［李俊杰，桑润滋，田树军，冯志华，2004. 热激蛋白在动物应激中的应用. 家畜生态，25（3）：44－46］

Parsell DA，Lindquist S，1994. Heat shock proteins and stress tolerance. In：Morimoto RI，Tissieres A，Georgopoulous C eds. The Biology of Heat Shock Proteins and Molecular Chaperones. New York：Cold Spring Harbor Laboratory Press. 457－494.

Ramos NE，Neto AF，Arsénio S，Mangerico E，Stigter L，Fortunato E，Fernandes JE，Lavadinho AMP，Louro D，2002. Situation of the whiteflies *Bemisia tabaci* and *Trialeurodes vaporariorum* in protected tomato crops in Algarve（Portugal）. *Bulletin OEPP/EPPO Bulletin*，32（1）：11－15.

Salvucci ME，2000. Sorbitol accumulation in whiteflies：evidence for a role in protecting proteins during heat stress. *J. Therm. Biol.*，25（5）：353－361.

Salvucci ME，Hendrix DL，Wolfe GR，1999. Effect of high temperature on the metabolic processes affecting sorbitol synthesis in the silverleaf whitefly，*Bemisia argentifolii*. *J. Insect Physiol.*，45（1）：21－27.

Salvucci ME，Stecher DS，Henneberry TJ，2000. Heat shock proteins in whiteflies，an insect that accumulates sorbitol in response to heat stress. *J. Therm. Biol.*，25（5）：363－371.

Silbermann R，Tatar M，2000. Reproductive costs of heat shock protein in transgenic *Drosophila melanogaster*. *Evolution*，54（6）：2 038－2 045.

Solomon JM，Rossi JM，Golic K，McGarry T，Lindquist S，1991. Changes in hsp70 alter thermotolerance and heat-shock regulation in *Drosophila*. *New Biol.*，3（11）：1 106－1 120.

Sørensen JG，Dahlgaard J，Loeschcke V，2001. Genetic variation in thermal tolerance among natural populations of *Drosophila buzzatii*：down regulation of hsp70 expression and variation in heat stress resistance traits. *Funct. Ecol.*，15（3）：289－296.

Sørensen JG，Michalak P，Justesen J，Loeschcke V，1999. Expression of the heat-shock protein hsp70 in *Drosophila buzzatii* lines selected for thermal resistance. *Hereditas*，131（2）：155－164.

Wang HH，2005. Molecular Cloning and Bacterial Expression of Heat Shock Proteins and Their Relationship with Stress Tolerance in *Bemisia tabaci*（B biotype）. PhD Dissertation，Institute of Plant Protection，Chinese Academy of Agricultural Sciences. 28－39.［王海鸿，2005. B 型烟粉虱热休克蛋白基因的克隆和表达及其与胁迫耐受性关系的研究. 中国农业科学院植物保护研究所博士论文. 28－39］

Whyard S，Wyatt GR，Walker VK，1986. The heat shock response in *Locusta migratoria*. *J. Comp. Physiol. B*，156（6）：813－817.

Wolfe GR，Hendrix DL，Salvucci ME，1998. A thermoprotective role for sorbitol in the silverleaf whitefly，*Bemisia argentifolii*. *J. Insect Physiol.*，44（7－8）：597－603.

（责任编辑：黄玲巧）